



(51) 国際特許分類6 C07C 229/22, 227/04, 227/18, C07B 59/00 // C07M 5:00	A1	(11) 国際公開番号 WO97/03042 (43) 国際公開日 1997年1月30日(30.01.97)
(21) 国際出願番号 PCT/JP96/01948 (22) 国際出願日 1996年7月12日(12.07.96) (30) 優先権データ 特願平7/176254 1995年7月12日(12.07.95) JP (71) 出願人 (米国を除くすべての指定国について) 三菱化学株式会社 (MITSUBISHI CHEMICAL CORPORATION)[JP/JP] 〒100 東京都千代田区丸の内2丁目5番2号 Tokyo, (JP) (72) 発明者 ; および (75) 発明者 / 出願人 (米国についてののみ) 高柳久男(TAKAYANAGI, Hisao)[JP/JP] 〒227 神奈川県横浜市青葉区鴨志田町1000番地 三菱化学株式会社 横浜総合研究所内 Kanagawa, (JP) (74) 代理人 弁理士 今村正純, 外(IMAMURA, Masazumi et al.) 〒103 東京都中央区八重洲1丁目8番12号 藤和八重洲一丁目ビル7階 Tokyo, (JP)		(81) 指定国 CA, JP, US, 欧州特許 (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE). 添付公開書類 国際調査報告書
(54)Title: 2,2-DIDEUTERO-5-AMINOLEVULINIC ACID (54)発明の名称 2,2-ジジューテロ-5-アミノレブリン酸 (57) Abstract 2,2-dideutero-5-aminolevulinic acid, or salts, hydrates or solvates thereof (preferably 2,2-dideutero-5-aminolevulinic acid hydrochloride), and a process for producing 2,2-dideutero-5-aminolevulinic acid. This acid is useful as a contrast medium for MRI diagnosis.		

(57) 要約

2, 2-ジジューテロー5-アミノレブリン酸若しくはその塩、又はそれらの水和物若しくはそれらの溶媒和物、好ましくは2, 2-ジジューテロー5-アミノレブリン酸塩酸塩、並びに2, 2-ジジューテロー5-アミノレブリン酸の製造方法が提供される。本発明により提供される2, 2-ジジューテロー5-アミノレブリン酸はMRI診断用造影剤として有用である。

情報としての用途のみ

PCTに基づいて公開される国際出願をパンフレット第一頁にPCT加盟国を同定するために使用されるコード

AL	アルバニア	DE	ドイツ	LI	リヒテンシュタイン	PL	ポーランド
AM	アルメニア	DK	デンマーク	LC	セントルシア	PT	ポルトガル
AT	オーストリア	EE	エストニア	LK	スリランカ	RO	ルーマニア
AU	オーストラリア	FI	フィンランド	LR	リベリア	RU	ロシア連邦
AZ	アゼルバイジャン	FR	フランス	LS	レソト	SD	スーダン
BA	ボスニア・ヘルツェゴビナ	GB	イギリス	LT	リトアニア	SE	スウェーデン
BB	バルバドス	GE	グルジア	LV	ラトヴィア	SG	シンガポール
BE	ベルギー	GR	ギリシャ	MC	モナコ	SI	スロベニア
BF	ブルキナ・ファソ	HU	ハンガリー	MD	モルドヴァ共和国	SK	スロバキア
BG	ブルガリア	IE	アイルランド	MG	マダガスカル	SN	セネガル
BJ	ベナン	IL	イスラエル	MK	マケドニア共和国	SZ	スワジランド
BR	ブラジル	IT	イタリア	ML	マリ	TD	チャド
BY	ベラルーシ	JP	日本	MN	モンゴル	TG	トーゴ
CA	カナダ	KE	ケニア	MR	モーリタニア	TJ	タジキスタン
CC	中央アフリカ共和国	KR	韓国	MW	マラウイ	TM	トルクメニスタン
CG	コンゴ	KZ	カザフスタン	MX	メキシコ	TR	トルコ
CH	スイス			NE	ニジェール	TT	トリニダード・トバゴ
CI	コート・ジボアール			NL	オランダ	UA	ウクライナ
CM	カメルーン			NO	ノルウェー	UG	ウガンダ
CN	中国			NZ	ニュージーランド	US	合衆国
CU	キューバ					UZ	ウズベキスタン
CZ	チェコ共和国					VN	ベトナム

明 細 書

2, 2-ジジューテロー5-アミノレブリン酸

技術分野

本発明は、MR I（磁気共鳴画像）用造影剤として有用な2, 2-ジジューテロー5-アミノレブリン酸に関する。より詳細には、2, 2-ジジューテロー5-アミノレブリン酸、その塩、それらの水和物または溶媒和物およびこれを必須成分とするMR I用造影剤に関する。

背景技術

MR Iは、生体の病理学的な形態変化を可視的に画像化することで疾患を正確に診断する優れた手法であり、すでに広範に利用されている診断法のひとつである。現在用いられているMR Iは ^1H を検出核としており、生体中の水分子が、その存在する組織により、あるいは組織の病理学的な異常の有無により異なった環境に置かれることによって生じる ^1H 核の緩和時間の差を画像化するものである。

^1H 核の緩和時間に影響を与えることにより、環境差の顕在化、あるいは画像の鮮明化を図ることができ、このような目的でMR I造影剤がしばしば用いられる。現在用いられているMR I造影剤には種々のコンセプトのものがあるが、いずれも ^1H 核を検出核種とするMR I診断に用いられるものであることに変わりはない。もっとも、これらMR I造影剤は、消化管用の一部の造影剤を除いていずれも血管内投与されるため、患者にほとんど苦痛を与えないというMR I診断の利点を損なっているのが現状である。従って、患者にほとんど苦痛を与えない経口投与可能なMR I造影剤が求められている。

一方、生体内の水分子を測定するのではなく、NMR分光学的に検出可能な ^1H 以外の核種を測定核種として用いるMR I診断法も試みられている。このような測定核種として、例えば ^{19}F 、 ^{23}Na 、 ^{31}P 、 ^{13}C を利用することができる。生体組織に存在しない核種を用いたこの方法では、 ^1H を核種とするMR I診断では不可能な検出核をトレーサーとした画像診断を行うことができ、 ^1H を核種とする

MR I 診断では得られないケミカルシフトの情報を得ることもできるので、その有用性は極めて高い。

重水素 ($D = {}^2H$) は NMR 分光学的に検出可能な安定核種であり (Chem. Pharm. Bull. Vol. 38, No. 9, p 2610-2613, 1990; 超伝導型生体超分子 NMR システムの開発 平成 4 年度 No. 03558029, p 38, 1993 等)、それに加えて、天然存在比が 0.015% と非常に低く、生体組織には存在しないに等しい。従って、重水素を測定核種とする MR I 診断法は、極めて有用な診断方法となることが期待される。それにも拘わらず、重水素を測定核種として含む造影剤に関する研究はほとんどなされていない (例えば、米国特許第 5,042,488 号明細書、及び特開平 6-206883 号公報などを参照のこと)。

従って、本発明の目的は、重水素を測定核種として含む MR I 診断用造影剤を提供することにある、より具体的には、重水素を測定核種として含み、特定の生体組織に高い親和性を有する造影剤を提供することにある。また、本発明の別の目的は、上記の特徴を有する MR I 診断用造影剤であって、経口投与可能な造影剤を提供することにある。

発明の開示

本発明者らは、上記課題を解決すべく鋭意検討を重ねた結果、生体内に投与された 2,2-ジジューテロ-5-アミノレブリン酸が MR I により測定可能であり、肝臓などの生体組織に特異的に集積して高い造影効果を発揮できることを見いだした。また、2,2-ジジューテロ-5-アミノレブリン酸の上記造影効果が、経口投与によっても十分に発揮できることを見いだした。本発明は上記の知見を基にして完成されたものである。

すなわち、本発明によれば、2,2-ジジューテロ-5-アミノレブリン酸及びその塩、並びにそれらの水和物及び溶媒和物が提供される。本発明の別の態様によれば、2,2-ジジューテロ-5-アミノレブリン酸及びその塩、並びにそれらの水和物及び溶媒和物からなる群から選ばれる物質を含む MR I 診断用造影剤が提供される。

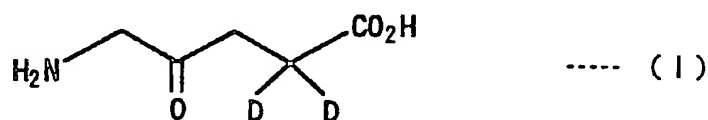
本発明のさらに別の態様によれば、2, 2-ジジューテロ-5-アミノレブリン酸の製造方法であって、以下の工程：（a）5, 5-ジメトキシ-2-ピペリドンを経水素化する工程；及び（b）上記工程で得られた重水素化合物を加水分解する工程を含む方法、並びに、2, 2-ジジューテロ-5-アミノレブリン酸の製造方法であって、以下の工程：（c）2, 2-ジジューテロ-4-ペンテン酸の二重結合をエポキシ化する工程；（d）上記工程で得られたエポキシ化合物にアジド化合物を反応させてエポキシ環を開環する工程；（e）上記工程で得られた開環体の水酸基（保護されていてもよい）を酸化する工程；及び、（f）アジド基を還元してアミノ基に変換する工程を含む方法が提供される。

図面の簡単な説明

第1図は、本発明のMRI診断用造影剤をMRI測定した際のスペクトルである。

発明を実施するための最良の形態

本発明の2, 2-ジジューテロ-5-アミノレブリン酸は下記式（I）

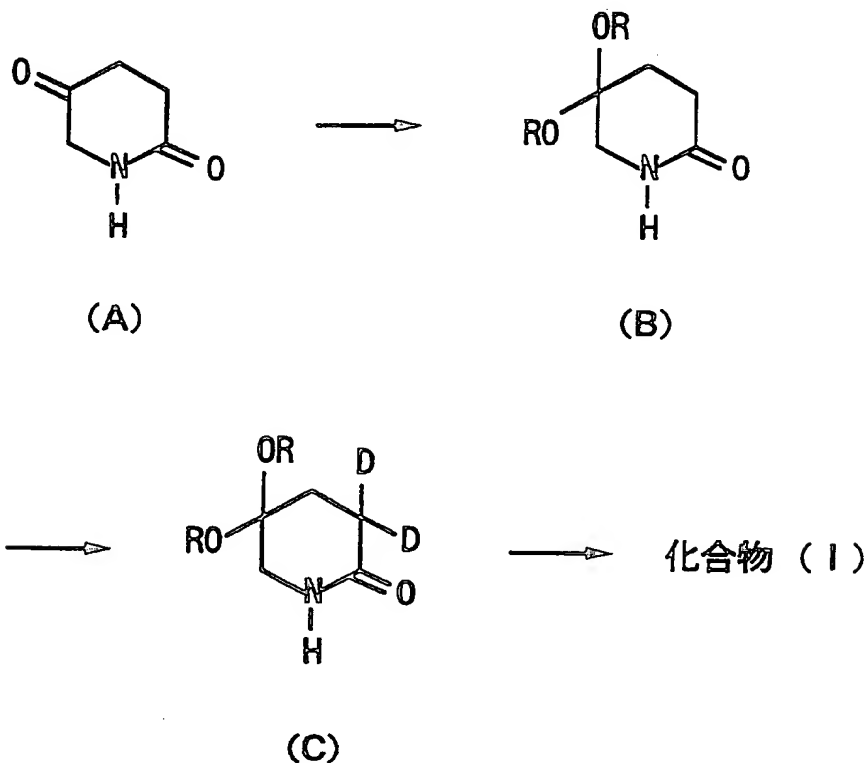


で表される。

上記の2, 2-ジジューテロ-5-アミノレブリン酸が形成しうる塩としては、例えば、塩酸塩、臭化水素酸塩、ヨウ化水素酸塩、硝酸塩、リン酸塩等の無機酸塩、コハク酸塩、シュウ酸塩、フマル酸塩、マレイン酸塩、乳酸塩、酒石酸塩、クエン酸塩、酢酸塩、グリコール酸塩、メタンスルホン酸塩、トルエンスルホン酸塩等の有機酸塩、アルカリ金属塩、アルカリ土類金属塩、アンモニウムあるいはアルキルアンモニウム塩等が挙げられる。また、上記の2, 2-ジジューテロ-5-アミノレブリン酸およびその塩は、水和物または溶媒和物を形成することもできる。溶媒和物としてはメタノール、エタノール、イソプロパノール、アセトン、酢酸エチル、塩化メチレン等が挙げられる。

本発明化合物のうち、最も好ましい化合物としては、2, 2-ジジューテロ-5-アミノレブリン酸の塩酸塩を挙げるができる。

本発明化合物は、例えば下記反応ルートに従って合成することができる。



(上記式中、Rはメチル基、エチル基等の低級アルキル基を表す。)

文献既知 (J. Am. Chem. Soc., 80, 3717 (1958)) のピペリジン-2, 5-ジオン (A) に、メタノール、エタノール等の低級モノアルコール、エチレングリコール等のジオールを酸性触媒あるいは脱水剤の存在下に作用させた後、酸性触媒の存在下でオルトエステルを作用させ、さらに5位カルボニル基をアセタールとして保護した5, 5-ジメトキシ-2-ピペリドン (B) を得る。ついで、塩基の存在下で、5, 5-ジメトキシ-2-ピペリドン (B) を重水素化合物との水素、重水素交換反応に付して3, 3-ジジューテロ-5, 5-ジメトキシ-2-ピペリドン (C) とし、これを酸加水分解することにより対応する酸の塩として2, 2-ジジューテロ-5-アミノレブリン酸を製造できる。

(A) からアルコールとの反応によって (B) を製造する際、酸性触媒として

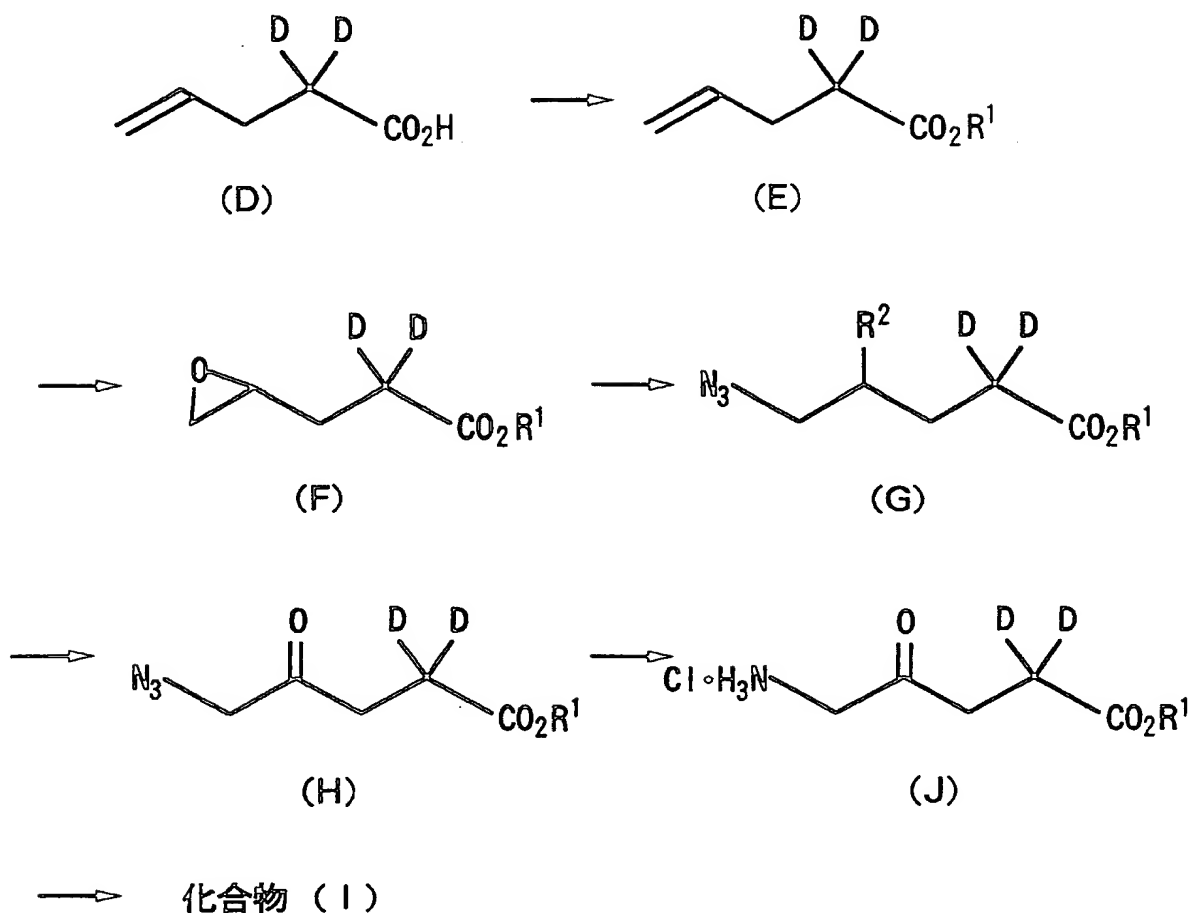
は、塩酸、p-トルエンスルホン酸、リン酸等のプロトン酸、塩化カルシウム、三フッ化ホウ素エーテラート等の非プロトン酸のいずれを用いてもよい。その使用量は1当量から触媒量、好ましくは触媒量であり、脱水剤としては分子ふるい及び酸性触媒を兼ねて塩化カルシウム等が用いられる。反応は、一般的には、当該アルコールを溶媒兼用で用い、0℃からアルコールの沸点温度の範囲の反応温度で行なう。あるいは塩化メチレン、エーテル、トルエン等適当な溶媒を用いて共沸蒸留操作により脱水を行いつつ反応を行ってもよい。オルトエステルとしてはオルトギ酸メチル、オルトギ酸エチル等が用いられ、溶媒として対応するメタノール、エタノール等を用いることができる。触媒としては上記のアルコールとの反応で用いられる酸性触媒を利用できる。

(B) から (C) の製造において、重水素化合物としては重水 (D_2O)、重水素化メタノール (CH_3OD あるいは CD_3OD) 等の重水素を容易に解離する化合物が用いられる。塩基としては、これらの重水素化合物に可溶で、ケトンの α -位プロトンを引き抜く能力を有し、かつ、解離するプロトンを持たない塩基を用いることができる。例えば、重水素化水酸化ナトリウム、ナトリウムメトキシド等の金属アルコキシドが用いられる。用いる重水素化合物の重水素化率および作用させる当量数に応じて (C) の重水素化率を任意に選ぶことができるが、重水素化合物は、通常、1 から 200 当量を溶媒兼用で用い、塩基は触媒量を使用すればよい。一般的に、水素、重水素交換反応は $-20^\circ C$ から溶媒の沸点、好ましくは 0 から $50^\circ C$ の反応温度で、30 分から 10 日間、好ましくは 5 時間から 2 日間行なえばよい。

(C) から 2, 2-ジジューテロ-5-アミノレブリン酸の製造において用いられる酸としては、薬理学的に許容される塩酸、臭酸等の無機酸、あるいはメタンスルホン酸、p-トルエンスルホン酸等の有機酸があげられる。反応は、(C) に対して 0.1 から 10 当量、好ましくは 1 から 3 当量の酸を用い、メタノール、エタノール、テトラヒドロフラン等の水と混和する有機溶媒を含む水、あるいは水のみを溶媒として、0 から $200^\circ C$ 、好ましくは 50 から $100^\circ C$ の温度で、30 分から 5 日間、好ましくは 3 時間から 10 時間行なえばよい。

また、化合物 (I) は、2, 2-ジジューテロ-4-ペンテン酸 (D) より、

例えば、以下の合成経路によっても製造できる。



(上記式中、 R^1 はメチル基、エチル基などの低級アルキル基、又はベンジル基を表し、 R^2 は置換シリル基で保護されていてもよい水酸基を表す。)

化合物 (D) は文献 (J. Am. Chem. Soc., 118, 2634 (1996)) の方法によっても合成できるが、酢酸- d_4 をアリル化する方法によっても合成できる。

化合物 (D) から、例えば、(1) ジアゾメタンを作用させる方法、(2) 酸クロリドとした後にアルコールを作用させる方法、(3) 鉍酸、有機酸、ルイス酸などの酸触媒の存在下でアルコールとの脱水反応を行う方法、あるいは(4) ジシクロヘキシルカルボニルジイミド、カルボニルジイミダゾール等のカルボキシル基の活性化剤を用いる方法等、通常のエステル化の方法により化合物 (E)

を得ることができる。

その後、この化合物に対して、孤立二重結合をエポキシ化するのに用いられる方法、例えば、有機過酸、アルキルヒドロペルオキシド、過酸化水素などの酸化剤を作用させる方法、あるいは含水有機溶媒中でN-ブロモスクシンイミド等のN-ハロカルボン酸アミドを作用し、生成するハロヒドリンを塩基処理する方法等により化合物(F)を製造できる。有機過酸としては、過酢酸、m-クロロ過安息香酸などを用いることができ、塩化メチレン、クロロホルム等の適当な有機溶媒中で、化合物(E)に対して0.1~10当量、好ましくは1~1.5当量の有機過酸を-20℃~150℃、好ましくは0℃~100℃の反応温度で1時間から10日間、好ましくは5時間から3日間作用させる。アルキルヒドロペルオキシド、過酸化水素を用いる場合には、チタニウム、アルミニウム、バナジウム、モリブデン等の金属酸化物錯体を触媒として用いることができる。反応条件を適宜選択することにより、化合物(E)を単離・精製することなく、化合物(D)から化合物(F)を製造することも可能である。

上記の方法で製造した化合物(F)から、エポキシ環をアジドアニオンで開環する方法、例えば、アルコール系溶媒中でアンモニウムアジドを作用させる方法(J. Org. Chem., 50, 1556 (1985)を参照)、過塩素酸リチウム等の金属塩の存在下にアセトニトリル中でナトリウムアジドを作用させる方法(Tetrahedron Letters, 31, 5641 (1990)を参照)、トリメチルシリルアジド、トリ-n-ブチルスタニルアジド等のアジド化合物を触媒なしで作用させる方法、(Tetrahedron Letters, 30, 4153 (1989)を参照)、あるいはトリメチルシリルアジド、トリ-n-ブチルスタニルアジド等のアジド化合物を触媒存在下に作用させる方法(Tetrahedron: Asymmetry, 2, 437 (1991)参照)等により化合物(G)を製造することができる。

上記の反応において、トリメチルシリルアジド、トリ-n-ブチルスタニルアジドの代わりに、例えば、t-ブチルジメチルシリルアジド、t-ブチルジメチルスタニルアジドを用いることにより、水酸基がt-ブチルジメチルシリル基で保護された化合物を製造することができる。また、アンモニウムアジドとの反応

の際に、特に R^1 がメチル基、エチル基の場合、エステルの加水分解が起こり易く、 R^1 が水素原子である化合物、すなわちカルボン酸塩が生成する場合がある。この化合物の R^1 の水素原子を R^2 の水酸基と脱水反応させるとラクトンが生成する。また、カルボン酸の抽出溶液に、例えばジアゾメタン等のエステル化剤を直ちに作用させると、 R^1 がメチル基、 R^2 が水酸基の化合物（G）を製造できる。上記のラクトン体は、水酸化リチウム、水酸化ナトリウム等の金属水酸化物を作用させることによりカルボン酸塩に変換することができるので、この方法により一旦生成したラクトンを R^2 が水酸基であるエステル体に変換することが可能である。 R^2 の水酸基を保護している置換シリル基は、例えば、保護された化合物をメタノール等の適当なプロトン性溶媒中に溶解して攪拌することにより容易に除去され、 R^2 が水酸基の化合物に誘導することができる。

上記の方法で製造した R^2 が水酸基である化合物（G）から、二級アルコールをケトンに酸化する方法、例えば（1）ジョーンズ試薬、クロロクロム酸ピリジニウム等のクロム酢酸化、（2）ジメチルスルホキシド（DMSO）-三酸化硫黄-ピリジン系、DMSO-無水トリフルオロ酢酸系を用いるDMSO酸化、あるいは（3）次亜塩素酸ナトリウム、次亜塩素酸カルシウムを用いる次亜ハロゲン酸酸化などにより、化合物（H）を製造できる。また、酸化剤の種類に応じて、例えば、ジョーンズ試薬などを用いて酸化を行う場合には、 R^2 として置換シリル基で保護された水酸基を有する化合物（G）から、脱保護することなく直接化合物（H）を製造できる。

このようにして得た化合物（H）から、例えば、 R^1 に対応するアルコールを溶媒として用い、1当量からそれ以上の塩酸の存在下で、例えば、活性炭に担持したパラジウム、パラジウム黒、酸化白金等の接触水素添加用触媒を用いて接触還元を行うことにより化合物（J）を製造することができ、続いて、化合物（J）を水溶液中で酸性加水分解して化合物（I）を得ることができる。 R^1 がベンジル基である場合や、この反応をアルコールの代わりに含水溶媒中で行う場合には、化合物（J）を単離することなく化合物（I）を製造することが可能である。

本発明の化合物（I）はMRI診断用の造影剤として用いることができる。本発明の造影剤としては、上記の化合物（I）を単独で用いてもよいが、該化合物

を薬理学的に許容される担体と複合して医薬組成物の形態で用いてもよい。本発明の造影剤は、経口的又は非経口的に投与することができ、例えば、顆粒剤、細粒剤、散剤、錠剤、硬シロップ剤、軟カプセル剤、シロップ剤、乳剤、懸濁剤、リポソーム、若しくは液剤等の形態の経口投与用組成物、又は、注射剤、点滴剤、若しくは座剤などの形態の非経口投与用組成物として投与することができる。本発明の造影剤は、経口投与によって十分な造影効果を発揮できるという特徴を有しているが、短時間での造影診断のためには注射剤として静脈内に投与する方法も好ましい。本発明のMRI診断用造影剤は、例えば肝臓などの組織に集積する性質を有しているので、例えば、肝臓癌などの癌組織、動脈硬化、リウマチ部位に選択的な造影剤として用いることができる。投与量は、経口投与の場合に約100mgから10g程度、好ましくは500mgから5g程度である。

経口投与用の固体組成物を製造する際に用いられる賦形剤としては、例えば、乳糖、ショ糖、デンプン、タルク、セルロース、デキストリン、カオリン、炭酸カルシウム等が挙げられる。経口投与のための液体組成物、即ち乳剤、シロップ剤、懸濁剤、液剤等には、一般的に用いられる希釈剤などの不活性な液体媒体、例えば植物油等を混合することができ、さらに補助剤、例えば湿潤剤、懸濁補助剤、甘味剤、芳香剤、着色剤または保存剤等を配合してもよい。経口投与用の液体組成物を製造した後、ゼラチンのような吸収性物質のカプセル中に該液体組成物を含ませてもよい。非経口投与の製剤、即ち注射剤等の製造に用いられる溶剤、または懸濁化剤としては、例えば、水、プロピレングリコール、ポリエチレングリコール、ベンジルアルコール、オレイン酸エチル、レシチン等が挙げられる。上記の医薬組成物の製造方法としては、当業者に周知・慣用の方法を用いればよい。

実施例

以下、実施例によって本発明を具体的に説明するが、本発明の範囲は下記の実施例に限定されるものではない。なお、実施例中に記載した化合物(A)などの番号は、前記スキーム中に示した化合物番号に対応している。

例1：化合物B(R=メチル基)の合成

2, 5-ピペリジンジオン (1.8 g, 16 mmol) のメタノール溶液 20 ml に、オルトギ酸メチル 5 ml の溶液に約 5 mg の p-トルエンスルホン酸を加えたものを加え、12 時間加熱還流した。冷却後 1 ml のトリエチルアミンを加え、ロータリーエバポレーターにて濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー ($\text{CHCl}_3 : \text{MeOH} = 15 : 1$) にて精製後、酢酸エチル/エーテルから再結晶し、目的とする 5, 5-ジメトキシ-2-ピペリドン (1.85 g, 81%) を得た。

m. p. 89–90°C

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 300 MHz) δ : 2.01 (t, 2H, $J = 7.0$ Hz, NCOCH_2-), 2.43 (t, 2H, $J = 7.0$ Hz, $\text{NCOCH}_2\text{CH}_2-$), 3.25 (s, 6H, OMe), 3.36 (d, 2H, $J = 2.5$ Hz, $\text{NCH}_2\text{C}(\text{OMe})_2$), 5.89 (bs, 1H, NH).
 P-SIMS (Glycerin matrix) 182 ($\text{M}^+ + 1$, 8%), 160 (100%), 128 (34%), 101 (5%).

例 2 : 化合物 (C) の合成

例 1 で合成した 5, 5-ジメトキシ-2-ピペリドン (500 mg, 3.4 mmol) を、窒素雰囲気下で重水素化メタノール (CD_3OD) 5 ml に溶解し、これに NaOD の 40% D_2O 溶液を 0.05 ml 加え、室温にて一昼夜かき混ぜた。冷却後、酢酸を徐々に加え、pH を約 6.5 とし、ロータリーエバポレーターにて濃縮した。さらに真空ポンプで溶媒等を留去し、残渣に 5 ml のクロロホルムを加え、かき混ぜた後、濾過した。不溶物をさらにクロロホルムにて洗浄し、濾液をロータリーエバポレーターにて濃縮した。酢酸エチル/エーテルから再結晶し、目的とする 3, 3-ジジューテロ-5, 5-ジメトキシ-2-ピペリドン (485 mg, 95%) を得た。

m. p. 87–88°C

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 300 MHz, TMS) δ : 1.99 (s, 2H, $\text{NCOCD}_2\text{CH}_2-$), 3.25 (s, 6H, OMe), 3.35 (d, 2H, $J = 2.5$ Hz, $\text{NCH}_2\text{C}(\text{OMe})_2$), 6.93 (bs, 1H, NH).

P-SIMS (Glycerin matrix) 184 ($M^+ + 1.5\%$),
162 (100%), 130 (31%), 103 (5%).

例3：本発明の化合物（I）の合成

例2で合成した3, 3-ジジューテロ-5, 5-ジメトキシ-2-ピペリドン
(500mg, 3.4mmol)を、窒素雰囲気下で1N塩酸水溶液に溶解し、
80℃の油浴上5時間かき混ぜた。ロータリーエバポレーターにて濃縮後、残渣
をエタノール、エーテルから再結晶し、目的とする2, 2-ジジューテロ-5-
アミノレブリン酸塩酸塩(462mg, 80%)を得た。

m. p. 147-149℃

$^1\text{H-NMR}$ (D_2O , 300MHz) δ : 2.75 (s, 2H, $-\text{CH}_2\text{CD}_2-$), 3.99 (s, 2H, NCH_2-).

P-SIMS (Glycerin matrix) 134 ($M^+ + 1\%$), 116
(18%).

例4：化合物（D）の合成

ジイソプロピルアミン(48ml, 0.34mol)のテトラヒドロフラン溶
液(200ml)を-10℃から-7℃で攪拌しながら、n-ブチルリチウム-
n-ヘキサン溶液(1M溶液, 207ml, 0.34mol)を加えた。このジ
イソプロピルアミド溶液に同温度で酢酸- d_4 (10g, 0.156mol)とヘ
キサメチルホスホロアミド(90ml)を加えた。30分後、アシルブロミド
(13.3ml, 0.156mol)を加えると、内温は-7℃から30℃に上
昇した。室温で一夜攪拌した後、大部分のテトラヒドロフランを減圧留去し、残
渣を氷水浴上で攪拌しながら酸性になるまで冷1N塩酸水を加え、ジエチルエー
テルにて有機物を抽出した。エーテル層を乾燥(MgCl_2)した後、濃縮して得ら
れた残渣を蒸留して、目的とする2, 2-ジジューテロ-5-ペンテン酸(9.
3g, 58%)を得た。

b. p. 79-82℃ (9mmHg)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 300MHz) δ : 2.39 (d, 2H, $J=6$).

3 Hz, $-\text{CH}_2\text{CD}_2-$), 5.01–5.13 (m, 2H, $\text{CH}_2=$), 5.77–5.89 (m, 1H, $\text{CH}_2=\text{CH}-$).

例5：化合物(E) (R^1 = メチル基) の合成

例4で得たカルボン酸 (9.1 g, 89 mmol) の塩化メチレン溶液 (27 ml) を氷水浴上で攪拌しつつ、カルボニルジイミダゾール (17.3 g, 106 mmol) を少量ずつ加えた。3時間攪拌した後、メタノール (5.4 ml, 133 mmol) を加え、一夜攪拌を継続した。反応混合物を冷水、飽和食塩水で洗浄した後、有機相を乾燥 (MgCl_2) して濃縮し、残渣を蒸留して目的とするメチルエステル体 (3.8 g, 26%) を得た。

b. p. 126–127°C

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 300 MHz) δ : 2.38 (d, 2H, $J=6.0$ Hz, $=\text{CHCH}_2$), 3.68 (s, 3H, OMe), 4.98–5.09 (m, 2H, $\text{CH}_2=$), 5.77–5.89 (m, 1H, $\text{CH}_2=\text{CH}-$).

例6：化合物(F) の合成

例5で得たエステル体 (2.3 g, 20 mmol) の塩化メチレン溶液 (120 ml) に *m*-クロロ過安息香酸 (純度55%, 7.5 g, 24 mmol) を攪拌しながら少量ずつ加えた。一昼夜室温で攪拌を継続した後、氷浴上で反応混合物に飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加えて激しく攪拌した。有機相を分液し、水相を塩化メチレンで抽出して有機相と合わせた後、この有機相を水洗して乾燥 (MgCl_2) した。溶媒を減圧留去して得られた残渣を減圧蒸留して、目的とするエポキシエステル体 (2.2 g, 85%) を得た。

b. p. 98–99°C (36 mmHg)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 300 MHz) δ : 1.77 (bdd, 1H, $J=8.5$, 4.0 Hz, $\text{CH}_a\text{H}_b\text{CD}_2-$), 1.98 (bdd, 1H, $J=8.5$, 2.7 Hz, $\text{CH}_a\text{H}_b\text{CD}_2-$), 2.51 (dd, 1H, $J=4.9$ Hz, 2.7 Hz, $\text{CH}_a\text{H}_b\text{O}-$), 2.76 (t, 1H, $J=2.7$ Hz, $\text{CH}_a\text{H}_b\text{CD}_2-$), 2.99 (m, 1H, CHCH_2CD_2), 3.69 (s, 3H, OMe).

例 7 : 化合物 (F) の合成

例 4 で得たカルボン酸 (7.5 g, 73.5 mmol) より、例 5 と同様にし
てエステル化及び後処理してエステル体を含む塩化メチレン溶液を得た。この溶
液を蒸留精製することなく、例 6 と同様に *m*-クロロ過安息香酸で酸化すること
により、例 6 で得たエポキシエステル体と同一の化合物を得ることができた (8.
0 g, 82%)。

例 8 : 化合物 (G) の合成

例 6 で得たエポキシエステル体 (7.5 g, 56.7 mmol)、トリメチル
シリルアジド (12 ml, 90 mmol)、DMF (12 ml) の混合物を、窒
素ガス雰囲気下に 90℃ の油浴上で 40 時間加熱攪拌した。冷却後、過剰の反応
剤及び DMF を減圧留去 (約 42℃ / 9 mmHg) し、残渣を少量のシリカゲル
を用いたカラムクロマトグラフィー (*n*-ヘキサン : 酢酸エチル = 20 : 1) に
より精製し、目的とするアジド体 (13.4 g, 95%) を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 300 MHz) δ : 0.20 (s, 9H, $-\text{SiMe}_3$), 1.85 (m, 2H, CH_2CD_2), 3.21 (dd, 1H, $J=12.5, 7.7\text{ Hz}$, $\text{CH}_a\text{H}_b\text{N}_3$), 3.28 (dd, 1H, $J=12.5, 4.3\text{ Hz}$, $\text{CH}_a\text{H}_b\text{N}_3$), 3.72 (s, 3H, OMe), 3.86–3.93 (m, 1H, CHO-).

例 9 : 化合物 (H) の合成

例 8 で得たアジド体 (13.1 g, 53 mmol) のアセトン溶液 (150 ml)
を氷冷下で攪拌し、ジョーンズ試薬 (4 [O] mmol/ml, 25 ml) を滴
下した。滴下終了後、氷水浴を外して薄層クロマトグラフィー上で原料が消失す
るまでさらに攪拌を継続した。反応液から大部分のアセトンを減圧留去した後、
残渣にエーテル及び水を加えて分液した。有機相を 2 回水洗した後に乾燥
(MgCl_2) し、減圧濃縮して得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー
(*n*-ヘキサン : 酢酸エチル = 7 : 2) で精製して、ケトン体 (6.3 g, 69

%)を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 300 MHz) δ : 2.73 (s, 2H, CH_2CD_2), 3.69 (s, 3H, $-\text{OMe}$), 4.03 (s, 2H, N_3CH_2-).

例10: 化合物 (J) の合成

例9で得たアジド-カルボニル体 (440 mg, 2.5 mmol) のメタノール溶液 (10 ml) に濃塩酸 (0.5 ml) を加え、10%パラジウム/炭素 (50 mg) の存在下に水素を吸収させて、室温で約2時間接触還元を行った。触媒を濾去し、触媒を洗浄した後、濾液を濃縮して目的とするアミン塩酸塩 (440 mg, 94%) を得た。

m. p. 118–121°C

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 300 MHz) δ : 2.87 (s, 2H, CH_2CD_2), 3.66 (s, 3H, $-\text{OMe}$), 4.09 (s, 2H, NH_2CH_2-).

例11: 化合物 (I) の合成

例10と同様にして、例9で得たアジド-カルボニル体 (3.9 g, 22.5 mmol) をメタノール (70 ml) に溶解し、濃塩酸 (2.5 ml) と10%パラジウム/炭素 (400 mg) の存在下で、室温下に接触還元を行った。得られた粗アミン塩酸塩を1N塩酸水溶液 (20 ml) に溶解し、一昼夜室温で放置した。シリカゲル薄層クロマトグラフィー (展開液, n-ブタノール: 水: 酢酸 = 6:2.5:1.5) で反応の完結を確認した後、反応液を濃縮して粗結晶を得た。メタノールとエチルエーテルの混合物から再結晶して、例3で得た化合物 (I) と同一の物理化学的性状を有する2, 2-ジジューテロ-5-アミノレブリン酸塩酸塩 (3.54 g, 92%) を得た。

このようにして製造した本発明の2, 2-ジジューテロ-5-アミノレブリン酸 (塩酸塩) は無色から淡黄色の結晶であり、その $^1\text{H-NMR}$ スペクトルは、重水素化していない5-アミノレブリン酸に観測される2位プロトン (2.59 ppm; t, 2H, $J = 2.5\text{ Hz}$) が消失すると共に、2.77 ppm (t, 2H, $J = 2.5\text{ Hz}$) の3位プロトンが1重線として2.75 ppmに出現し

ていることから、5-アミノレブリン酸の2位プロトンが重水素で置換されていることが証明された。さらに、2, 2-ジジューテロー5-アミノレブリン酸の塩酸塩のSI-MSスペクトルは、5-アミノレブリン酸塩酸塩についての測定値より2だけ分子量の大きな分子イオンピークを与え、2, 2-ジジューテロー5-アミノレブリン酸の構造を支持していた。なお、例3で得られた2, 2-ジジューテロー5-アミノレブリン酸（塩酸塩）の0.1 M水溶液を1カ月間室温に放置した後、濃縮して ^1H -NMRスペクトル分析を行ったところ、D原子の減少は観測されなかった。

試験例1

10 mlのガラスサンプル瓶に充填した本発明の化合物（例3の化合物）の0.1 M水溶液（D原子濃度は200 μM ）を、スペクトル幅10 KHz、FOV = 25 cm、スライス厚 = 10 mm、TR = 0.3秒、TE = 50 m秒、サンプリング数256、撮影マトリックス256 \times 256ポイント、積算回数64回の条件でMR装置BEM400/80（SMIM社製、2テスラ）によりMR測定したところ、明確なD画像が得られた。この結果は、重水（ D_2O ）以外の有機化合物中のD原子によってもMR画像化が可能であることを示している。

一方、動物としてマウス（b a l b / c、5週齢、メス、16-17 g）を用い、マウス結腸癌c o l o n 26を大腿部外部にマウス当たり 5×10^6 個を皮下投与することにより接種した後、13日目（癌体積約1 cm^3 ）に本発明の化合物を強制経口投与（2000 mg / Kg, 0.1 ml / 体重10 g）し、6時間後にペントバルビタールにて屠殺した。

この動物を用いて、同MR装置でMR測定をおこなった。 ^1H 及びDの共鳴周波数は、それぞれ85.562と13.134 MHzであった。測定条件は、スペクトル幅5000 Hz、繰り返し時間（TR）0.41秒、待ち時間200 μs 、積算2048である。その結果、第1図に示すと通りのDスペクトルが得られた。

5-アミノレブリン酸は、動物に投与された後に体内でポルフィリンに変換され、癌、動脈硬化、リウマチの各組織に集積することが知られている。その癌への集積量は、ラットを用いた動物実験によれば、癌組織1 g当たり、ポルフィリ

ンとして $20 - 40 \mu\text{mol}$ に達する (Gastroenterology、103、647-651 (1992) を参照)。ポルフィリンは5-アミノレブリン酸8分子より構成されており、本発明の化合物は5-アミノレブリン酸のポルフィリンに至る生合成経路上で脱離の起こらない2個の水素原子がD原子で置換された化合物であるところから、癌組織に $20 \mu\text{mol/g}$ 組織のポルフィリンが集積したとすると、癌組織中のD原子の量は、 $20 \times 8 \times 2 = 320 \mu\text{mol/g}$ 組織であり、濃度では $320 \mu\text{M}$ となる。実際に担癌動物からDスペクトルを観測できたことから、本発明のMRI診断用造影剤を用いて癌、動脈硬化、リウマチ等の組織の選択的なD画像化が可能であることが示された。

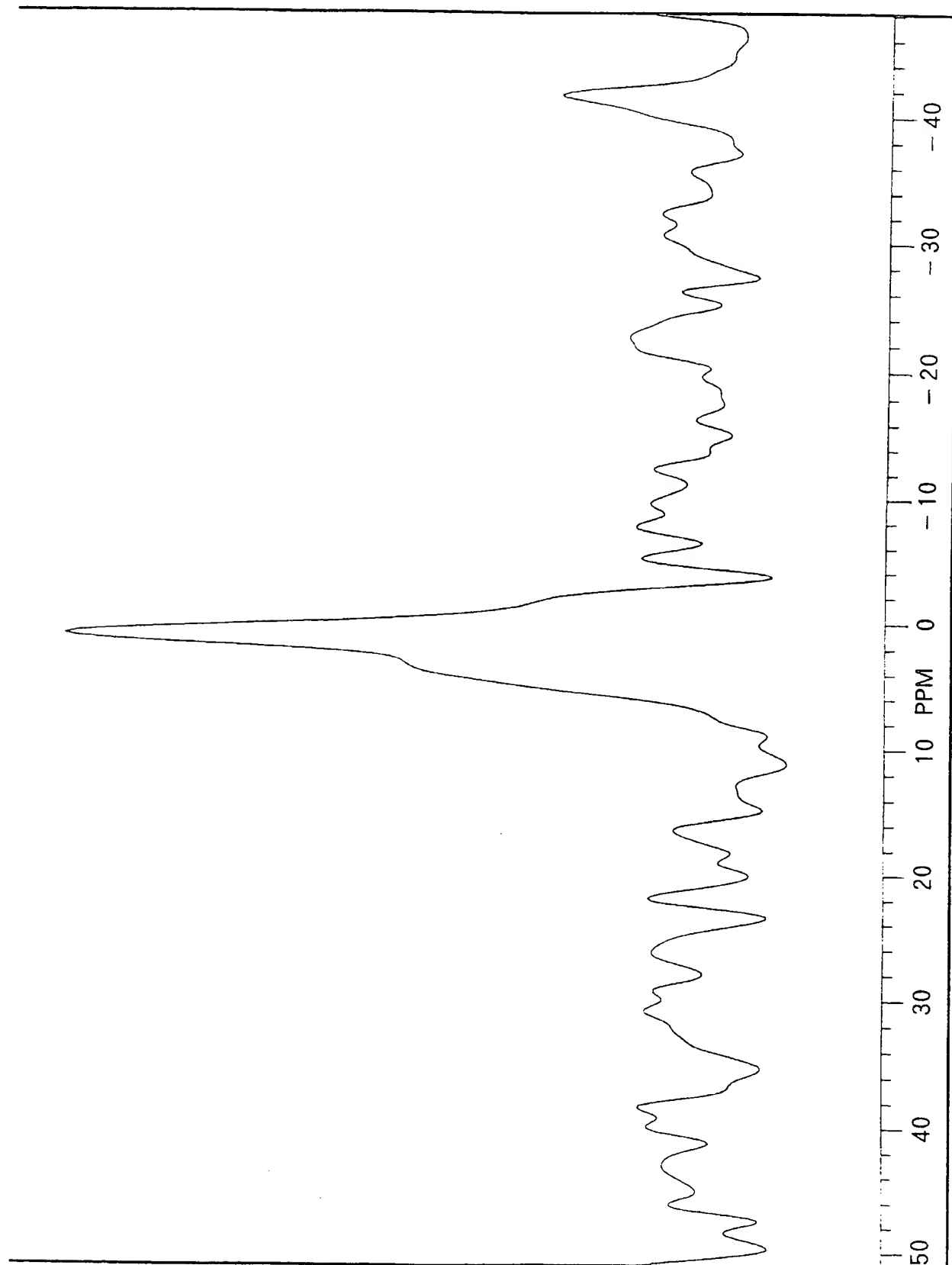
産業上の利用可能性

本発明の化合物は重水素 ($D = {}^2\text{H}$) を検出核種とするMRI診断用造影剤として有用である。特に、本発明の化合物は経口的に吸収可能であるところから、患者にほとんど苦痛を与えないというMRI診断の利点を損なわないMRI診断用造影剤として有用である。

請 求 の 範 囲

1. 2, 2-ジジューテロ-5-アミノレブリン酸若しくはその塩、又はそれらの水和物若しくはそれらの溶媒和物。
2. 2, 2-ジジューテロ-5-アミノレブリン酸塩酸塩。
3. 2, 2-ジジューテロ-5-アミノレブリン酸及びその塩、並びにそれらの水和物及びそれらの溶媒和物からなる群から選ばれる物質を含むMRI診断用造影剤。
4. 2, 2-ジジューテロ-5-アミノレブリン酸塩酸塩を含むMRI診断用造影剤。
5. 2, 2-ジジューテロ-5-アミノレブリン酸の製造方法であって、以下の工程：
 - (a) 5, 5-ジメトキシ-2-ピペリドンを重水素化する工程；及び
 - (b) 上記工程で得られた重水素化合物を加水分解する工程を含む方法。
6. 2, 2-ジジューテロ-5-アミノレブリン酸の製造方法であって、以下の工程：
 - (c) 2, 2-ジジューテロ-4-ペンテン酸の二重結合をエポキシ化する工程；
 - (d) 上記工程で得られたエポキシ化合物にアジド化合物を反応させてエポキシ環を開環する工程；
 - (e) 上記工程で得られた開環体の水酸基（保護されていてもよい）を酸化する工程；及び
 - (f) アジド基を還元してアミノ基に変換する工程；を含む方法。

第1図



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP96/01948

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int. Cl⁶ C07C229/22, C07C227/04, C07C227/18, C07B59/00, C07M5:00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int. Cl⁶ C07C229/22, C07C227/04, C07C227/18, C07B59/00, C07M5:00

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CAS ONLINE

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
P,A	DIANA APPLETON et al. 'DEUTERIUM ISOTOPE EFFECTS ON PORPHOBILINOGEN ...' Bioorganic & Medical Chemistry Letters, 4 June 1996, 6(11), 1191-1194	1 - 6
A	EILEEN K. JAFFE et al. ' ¹⁵ N and ¹³ C NMR Studies of Ligands Bound ...' Biochemistry, 1990, 29(36), 8345-8350	1 - 6
A	EILEEN K. JAFFE et al. ' ¹³ C NMR Studies of Methylene and Methine ...' Biochemistry, 1988, 27(12), 4475-4481	1 - 6
A	ALAN R. BATTERSBY et al. 'Stereochemistry of Formation of Methyl ...' J. Chem. Soc., Chem. Commun. (1981), (13), 645-647	1 - 6

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
October 7, 1996 (07. 10. 96)Date of mailing of the international search report
October 22, 1996 (22. 10. 96)Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

国際調査報告

国際出願番号 PCT/J P 9 6 / 0 1 9 4 8

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl¹ C07C229/22 C07C227/04 C07C227/18 C07B59/00 C07M5:00

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl¹ C07C229/22 C07C227/04 C07C227/18 C07B59/00 C07M5:00

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

CAS ONLINE

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
P, A	DIANA APPLETON et al. 'DEUTERIUM ISOTOPE EFFECTS ON PORPHOBILINOGEN . . .' Bioorganic & Medical Chemistry Letters, 4 June 1996, 6(11), 1191-1194	1 ~ 6
A	EILEEN K. JAFFE et al. ' ¹⁵ N and ¹³ C NMR Studies of Ligands Bound . . .' Biochemistry, 1990, 29(36), 8345-8350	1 ~ 6
A	EILEEN K. JAFFE et al. ' ¹³ C NMR Studies of Methylene and Methine . . .' Biochemistry, 1988, 27(12), 4475-4481	1 ~ 6
A	ALAN R. BATTERSBY et al. 'Stereochemistry of Formation of Methyl . . .' J. Chem. Soc., Chem. Commun. (1981), (13), 645-647	1 ~ 6

☐ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの

「E」先行文献ではあるが、国際出願日以後に公表されたもの

「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)

「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献

「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日 0 7 . 1 0 . 9 6

国際調査報告の発送日

22.10.96

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/J P)

郵便番号 1 0 0

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

福井 悟

印

4 H

9 1 6 0

電話番号 0 3 - 3 5 8 1 - 1 1 0 1 内線 3 4 4 4